sebia

HYDRAGEL 3 CSF

Ref. 4350

HYDRAGEL 6 CSF

Ref. 4351

Masque dynamique / Dynamic mask

IVD

CE

2008/12

ESPECIFICACIONES DE USO

Los kits HYDRAGEL 3 CSF e HYDRAGEL 6 CSF están diseñados para la detección e identificación de bandas "oligoclonales" en los patrones electroforéticos de líquido cefaloraquídeo (LCR o CSF : cerebrospinal fluid). El procedimiento compara los patrones de inmunofijación de las inmunoglobulinas (Ig) G, A y M, y/o inmunoglobulinas con cadenas ligeras Kappa o Lambda unidas, en el LCR y suero del mismo paciente. El análisis se realiza normalmente con LCR no concentrado.

Dependiendo de la selección de los antisueros de detección, se pueden analizar de una a tres parejas de muestra LCR – suero en cada gel de HYDRAGEL 3 CSF, y de dos a seis parejas de muestra LCR – suero en cada gel de HYDRAGEL 6 CSF.

Para uso en Diagnóstico *In Vitro.*

PRINCIPIO DEL TEST [6, 11, 14, 17]

Muchas dolencias del sistema nervioso central están asociadas con una concentración aumentada de las proteínas del LCR, debida o bien a un aumento de la permeabilidad de la barrera sangre-LCR, o bien a la síntesis de inmunoglobulinas, principalmente Ig G, dentro del sistema nervioso central. En este último caso, la síntesis intratecal de inmunoglobulinas, está a menudo asociado con heterogeneidad de las Ig, que se manifiesta en forma de "bandas oligoclonales" que se observan en los patrones de migración electroforéticos de alta resolución. Las bandas de la fracción de gammaglobulinas no son siempre las verdaderas bandas oligoclonales, es decir, inmunoglobulinas G, A ó M y por lo tanto no tienen la misma importancia diagnóstica que las bandas oligoclonales de Ig. La inmunofijación es la técnica elegida ya que puede probar que las bandas oligoclonales corresponden a Ig y puede identificar la Ig implicada. Para confirmar la síntesis intratecal de Ig, el suero y el LCR del paciente deben ser analizados en paralelo para demostrar diferencias entre ellos en los patrones de distribución de las Ig. La confirmación de la síntesis intratecal de Ig es una información importante que permite sospechar la existencia de una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central, como la causada por la esclerosis múltiple.

Una inmunofijación estándar que use antisueros no marcados necesita una concentración de Ig G de alrededor de 0.05 g/dL. Como la concentración de la Ig G en el LCR está generalmente entre 1 y 5 mg/dL, se necesita un volumen total de LCR entre 2 y 5 mL para obtener suficiente cantidad de concentrado. Comparada con la inmunofijación estándar, se ha conseguido aumentar la sensibilidad de detección alrededor de 100 veces en las técnicas HYDRAGEL 3 CSF ó HYDRAGEL 6 CSF mediante el uso de anticuerpos marcados con enzimas. Por lo tanto, si la concentración de la Ig de interés coincide o está por encima del límite de concentración de sólo 0.5 mg/dL, la Ig puede ser detectada y su distribución distinguida sin concentrar la muestra de LCR.

El análisis se realiza en dos etapas:
- electroforesis de alta resolución en gel de agarosa para fraccionar las proteínas de las muestras de LCR y suero,
- inmunofijación con antisueros marcados con enzimas, dirigidos contra Ig G, Ig A, Ig M y/o inmunoglobulinas con cadenas Kappa o Lambda unidas, para detectar e identificar las bandas oligoclonales en el LCR, y para demostrar diferencias o no en la distribución de las Ig en el LCR y el suero.

El sistema semiautomático HYDRASYS realiza todas las etapas necesarias para obtener geles listos para la interpretación.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS EN LOS KITS HYDRAGEL 3 CSF E HYDRAGEL 6 CSF

COMPONENTES	REF. N° 4350	REF. N° 4351
Geles de agarosa (listos para usar)	10 geles	10 geles
Esponjas tamponadas (listas para usar)	10 bolsas de 2	10 bolsas de 2
Diluyente de muestras CSF (listo para usar)	1vial, 85 mL	1vial, 85 mL
Diluyente de antisuero CSF (listo para usar)	1 vial, 2.5 mL	1 vial, 2.5 mL
Solución rehidratante CSF (lista para usar)	1 vial, 70 mL	2 viales, 70 mL
Disolvente de TTF3 (listo para usar)	1 vial, 20 mL	1 vial, 20 mL
TTF3 (solución stock)	1 vial, 0.5 mL	1 vial, 0.5 mL
Aplicadores (listos para usar)	1 caja de 10 (6 dientes)	1 caja de 10 (15 dientes)
Segmentos para antisueros (listos para usar)	1 caja de 10	1 caja de 10
Papeles de filtro Finos	1 paquete de 10	1 paquete de 10
Papeles de filtro Gruesos	4 paquetes de 10	4 paquetes de 10

PARA OBTENER RESULTADOS ÓPTIMOS :

Los reactivos de un mismo kit deben ser usados conjuntamente y según las instrucciones suministradas.

LEA DETENIDAMENTE LA HOJA DE INSTRUCCIONES.

1. GELES DE AGAROSA

Preparación

Los geles de agarosa están listos para su uso. Cada gel contiene: agarosa, 0.8 g/dL ; tampón tris-barbital pH 8.8 ± 0.1 ; aditivos, inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

ATENCIÓN: Los geles de agarosa contienen un 0.31 % de barbital y un 0.34 % de barbital sódico. ¡No los ingiera! ¡En caso de ingestión, consulte a un médico inmediatamente!

Uso

Medio de soporte para la electroforesis e inmunofijación de las proteínas.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Conserve los geles horizontalmente en el estuche protector a temperatura ambiente (15 a 30 °C) o en nevera (2 a 8 °C). (La flecha de la parte frontal del kit debe apuntar hacia arriba). NO LOS CONGELE. No almacene los geles cerca de una ventana o de una fuente de calor. Evite variaciones de temperatura importantes.

Los geles son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit y en las etiquetas de sus recipientes protectores. Deséchelos cuando:
(i) haya cristales o precipitados en la superficie el gel o su textura sea muy blanda (consecuencias de la congelación del gel) ;
(ii) se observe crecimiento bacteriano o fúngico ;
(iii) haya una cantidad anormal de líquido en el estuche del gel (como resultado de la exudación del tampón del gel debido a condiciones de conservación inadecuadas).

2. ESPONJAS TAMPONADAS

Preparación

Las esponjas tamponadas están listas para su uso. Cada una contiene: tampón tris-barbital pH 9.0 ± 0.3 ; azida sódica ; aditivos, inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

ATENCIÓN: El tampón de las esponjas contiene un 1.54 % de barbital, un 1.71 % de barbital sódico y un 0.50 % de azida sódica. ¡Perjudicial en caso de ingestión! ¡No las ingiera! ¡En caso de ingestión, consulte a un médico inmediatamente! Al desechar el producto, evite que contacte con ácidos, plomo o cobre, ya que forman compuestos explosivos o tóxicos en contacto con la azida sódica. Si contacta con la piel, lave la zona afectada inmediatamente con agua en abundancia.

Uso

Las esponjas tamponadas funcionan como reservorio del tampón para la electroforesis y aseguran el contacto entre el gel y los electrodos.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Conserve las esponjas tamponadas horizontalmente en sus bolsas protectoras a temperatura ambiente o en nevera. (La flecha de la parte frontal del kit debe apuntar hacia arriba).
Son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en la bolsa de las esponjas.
NO LAS CONGELE.
Deseche las esponjas tamponadas si la bolsa está abierta y las esponjas secas.
NOTA: Durante el almacenamiento, las esponjas tamponadas pueden adquirir un tono amarillento sin que la calidad del test se vea afectada.

3. DILUYENTE DE MUESTRA CSF

Preparación

El diluyente de muestra está listo para su uso. Contiene: solución salina complementada con albúmina sérica bovina, azida sódica y aditivos inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para diluir las muestras de LCR y suero.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Conserve el diluyente de muestra en nevera (2 a 8 °C). Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en la etiqueta del vial de diluyente. El diluyente debe estar exento de precipitados.

4. DILUYENTE DE ANTISUERO CSF

Preparación

El diluyente de antisuero está listo para su uso. Contiene: aditivos inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para diluir los antisueros justo antes de usarlos.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

El diluyente de antisuero puede conservarse a temperatura ambiente o en nevera. Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en la etiqueta del vial de diluyente de antisuero. El diluyente de antisuero debe estar exento de precipitados.
NOTA: Durante el almacenamiento, el diluyente de antisuero puede volverse amarillo sin ningún efecto adverso en su funcionamiento.

5. SOLUCIÓN REHIDRATANTE CSF

Preparación

La solución rehidratante está lista para su uso. Contiene una solución acuosa, pH 6.0, y aditivos, inocuos a las concentraciones usadas necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para rehidratar el gel de agarosa antes y después de la etapa de visualización basada en la peroxidasa.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

La solución rehidratante puede conservarse a temperatura ambiente o en nevera, y es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en la etiqueta del vial. La solución rehidratante debe estar exenta de precipitados.

6. DISOLVENTE DE TTF3

Preparación

El disolvente de TTF3 está listo para su uso. Contiene una solución ácida, pH 2.5, y aditivos, inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para preparar la solución de visualización TTF3, como se describe en el n° 7.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

El disolvente de TTF3 puede conservarse a temperatura ambiente o en nevera, y es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en la etiqueta del vial. El disolvente de TTF3 debe estar exento de precipitados.

7. TTF3

Preparación
Prepare la solución de revelado de trabajo justo antes de usarla. Añada los reactivos en el siguiente orden: 2 mL de disolvente de TTF3 ; 50 µL de TTF3 y 2 µL de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30 %.

ATENCIÓN: El TTF3 contiene dimetilformamida. ¡Perjudicial por inhalación! Si la ventilación es insuficiente, use un equipo de respiración adecuado. ¡No lo ingiera! ¡En caso de ingestión, consulte a un médico inmediatamente! Dañino en contacto con la piel. Lleve ropa protectora apropiada. Irrita los ojos. Si contacta con los ojos o la piel, lave inmediatamente la zona afectada con agua en abundancia y consulte a un médico. Evite exponerse al producto y obtenga formación especializada antes de usarlo. Puede causar cáncer. Si se encuentra mal, consulte a un médico inmediatamente (muestre la etiqueta siempre que sea posible).

Uso
Para la visualización de las inmunoglobulinas inmunofijadas.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro
Conserve el TTF3 a temperatura ambiente o en nevera. Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en la etiqueta del vial. La solución de TTF3 debe estar exenta de precipitados.

8. APLICADORES

Uso
Aplicadores precortados, de un solo uso, para la aplicación de la muestra en el gel.

Conservación
Conserve los aplicadores en un lugar seco a temperatura ambiente o en nevera.

9. SEGMENTOS PARA ANTISUEROS

Uso
Segmentos coloreados, de un solo uso, para la aplicación de los antisueros sobre el gel para realizar la inmunofijación.
ATENCIÓN: Manipule con cuidado los segmentos con los antisueros ya cargados.

10. PAPELES DE FILTRO FINOS

Uso
Papeles de filtro finos precortados, de un solo uso, para absorber el exceso de humedad de la superficie del gel antes de la aplicación de las muestras.

Conservación
Conserve los papeles de filtro finos en un lugar seco a temperatura ambiente o en nevera.

11. PAPELES DE FILTRO GRUESOS

Uso
Papeles de filtro gruesos, de un solo uso, para absorber las proteínas no precipitadas del gel después de la inmunofijación y la rehidratación.

Conservación
Conserve los papeles de filtro gruesos en un lugar seco a temperatura ambiente o en nevera.

EQUIPAMIENTO Y ACCESORIOS NECESARIOS

1. Sistema HYDRASYS SEBIA, referencia nº 1210 ó nº 1211.
2. Pipeteador, manual o automático, como el HYDRAPLUS SEBIA, referencia nº 1216 ó HYDRAPLUS 2 SEBIA, referencia nº 1217, para la carga de los aplicadores o de los segmentos para antisueros.
3. Cámara Seca para concentrar las muestras, SEBIA, referencia nº 1271.
4. Guía metálica de la plantilla SEBIA, suministrada con el HYDRASYS.
5. Plantilla dinámica, SEBIA, referencia nº 1255.
6. Kit de accesorios para CSF HYDRASYS CON PLANTILLA DINÁMICA SEBIA, referencia nº 1259.
7. Pipetas: 2 µL, 20 µL, 100 µL, 200 µL y 5 mL.

REACTIVOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. ANTISUERO ANTI-Ig G – PER

Preparación
El vial de antisuero (SEBIA, referencia nº 4743) contiene inmunoglobulinas totales de mamífero anti-Ig G humanas conjugadas a la peroxidasa. Un procedimiento de estabilización permite conservar el antisuero en forma liofilizada.
El reactivo tiene un color específico para evitar errores al usarlo. El color es el mismo que el de la etiqueta del vial.
Reconstituya el vial de antisuero liofilizado con exactamente 0,7 mL de agua destilada o desionizada. Deje reposar 5 minutos y agite suavemente (evite la formación de espuma).
Después, prepare la solución de trabajo del antisuero justo antes de usarla, mezclando para cada pareja LCR / suero que vaya a analizar: 6 µL de antisuero anti-Ig G - PER reconstituido y 34 µL de diluyente de antisuero. Homogenice bien la mezcla.
NOTA: Para analizar seis parejas LCR/suero en un gel de HYDRAGEL 6 CSF, diluya el antisuero con diluyente de antisuero, 30 µL de anti-Ig G - PER y 170 µL de diluyente de antisuero. Mezcle bien.

Uso
Para la inmunofijación y visualización de las proteínas separadas mediante electroforesis.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro
Antes de reconstituirlo, el antisuero liofilizado debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C) protegido de la luz, siendo estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial de antisuero o en su caja.
El antisuero reconstituido debe conservarse a 2 - 8 °C protegido de la luz y usarse en el plazo de una semana para evitar que se contamine o desnaturalice.

Puede congelarse (en alícuotas) y conservarse un máximo de 6 meses a - 20 °C.

IMPORTANTE: Después de la conservación a 2 - 8 °C ó a - 20 °C, homogenice el antisuero reconstituido antes de preparar la solución de trabajo (antisuero diluido).

El antisuero descongelado debe conservarse a 2 - 8 °C y usarse ese mismo día. No congele y descongele el antisuero más de 2 veces.
Deseche el antisuero si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

2. ANTISUERO ANTI-Ig A - PER

Preparación

El vial de antisuero (SEBIA, referencia nº 4742) contiene inmunoglobulinas totales de mamífero anti-Ig A humanas conjugadas a la peroxidasa. Un procedimiento de estabilización permite conservar el antisuero en forma liofilizada.
El reactivo tiene un color específico para evitar errores al usarlo. El color es el mismo que el de la etiqueta del vial.
Reconstituya el vial de antisuero liofilizado con exactamente 0,7 mL de agua destilada o desionizada. Deje reposar 5 minutos y agite suavemente (evite la formación de espuma).
Después, prepare la solución de trabajo del antisuero justo antes de usarla, mezclando para cada pareja LCR / suero qye vaya a analizar: 6 µL de antisuero anti-Ig A - PER reconstituido y 34 µL de diluyente de antisuero. Homogenice bien la mezcla.

Uso

Para la inmunofijación y visualización de las proteínas separadas mediante electroforesis.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Antes de reconstituirlo, el antisuero liofilizado debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C) protegido de la luz, siendo estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial de antisuero o en su caja.
El antisuero reconstituido debe conservarse a 2 - 8 °C protegido de la luz y usarse en el plazo de una semana para evitar que se contamine o desnaturalice.
Puede congelarse (en alícuotas) y conservarse un máximo de 6 meses a - 20 °C.

IMPORTANTE: Después de la conservación a 2 - 8 °C ó a - 20 °C, homogenice el antisuero reconstituido antes de preparar la solución de trabajo (antisuero diluido).

El antisuero descongelado debe conservarse a 2 - 8 °C y usarse ese mismo día. No congele y descongele el antisuero más de 2 veces.
Deseche el antisuero si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

3. ANTISUERO ANTI-Ig M - PER

Preparación

El vial de antisuero (SEBIA, referencia nº 4744) contiene inmunoglobulinas totales de mamífero anti-Ig M humanas conjugadas a la peroxidasa. Un procedimiento de estabilización permite conservar el antisuero en forma liofilizada.
El reactivo tiene un color específico para evitar errores al usarlo. El color es el mismo que el de la etiqueta del vial.
Reconstituya el vial de antisuero liofilizado con exactamente 0,7 mL de agua destilada o desionizada. Deje reposar 5 minutos y agite suavemente (evite la formación de espuma).
Después, prepare la solución de trabajo del antisuero justo antes de usarla, mezclando para cada pareja LCR / suero que vaya a analizar: 6 µL de antisuero anti-Ig M - PER reconstituido y 34 µL de diluyente de antisuero. Homogenice bien la mezcla.

Uso

Para la inmunofijación y visualización de las proteínas separadas mediante electroforesis.
Antes de reconstituirlo, el antisuero liofilizado debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C) protegido de la luz, siendo estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial de antisuero o en su caja.
El antisuero reconstituido debe conservarse a 2 - 8 °C protegido de la luz y usarse en el plazo de una semana para evitar que se contamine o desnaturalice.
Puede congelarse (en alícuotas) y conservarse un máximo de 6 meses a - 20 °C.

IMPORTANTE: Después de la conservación a 2 - 8 °C ó a - 20 °C, homogenice el antisuero reconstituido antes de preparar la solución de trabajo (antisuero diluido).

El antisuero descongelado debe conservarse a 2 - 8 °C y usarse ese mismo día. No congele y descongele el antisuero más de 2 veces.
Deseche el antisuero si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

4. CAJA DE ANTISUEROS ANTI-KAPPA / LAMBDA - PER

La caja de antisueros ANTI-KAPPA / LAMBDA - PER (SEBIA, referencia nº 4745) contiene: 1 vial de antisuero liofilizado anti-Kappa - PER y 1 vial de antisuero liofilizado anti-Lambda - PER.

4.1 ANTISUERO ANTI-KAPPA - PER

Preparación

El vial de antisuero contiene inmunoglobulinas totales de mamífero anti-cadenas ligeras ligadas Kappa humanas conjugadas a la peroxidasa. Un procedimiento de estabilización permite conservar el antisuero en forma liofilizada.
El reactivo tiene un color específico para evitar errores al usarlo. El color es el mismo que el de la etiqueta del vial.
Reconstituya el vial de antisuero liofilizado con exactamente 0,7 mL de agua destilada o desionizada. Deje reposar 5 minutos y agite suavemente (evite la formación de espuma).
Después, prepare la solución de trabajo del antisuero justo antes de usarla, mezclando para cada pareja LCR / suero que vaya a analizar: 6 µL de antisuero anti-Kappa - PER reconstituido y 34 µL de diluyente de antisuero. Homogenice bien la mezcla.

Uso

Para la inmunofijación y visualización de las proteínas separadas mediante electroforesis.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Antes de reconstituirlo, el antisuero liofilizado debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C) protegido de la luz, siendo estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial de antisuero o en su caja.
El antisuero reconstituido debe conservarse a 2 - 8 °C protegido de la luz y usarse en el plazo de una semana para evitar que se contamine o desnaturalice.
Puede congelarse (en alícuotas) y conservarse un máximo de 6 meses a - 20 °C.

IMPORTANTE: Después de la conservación a 2 - 8 °C ó a - 20 °C, homogenice el antisuero reconstituido antes de preparar la solución de trabajo (antisuero diluido).

El antisuero descongelado debe conservarse a 2 - 8 °C y usarse ese mismo día. No congele y descongele el antisuero más de 2 veces.
Deseche el antisuero si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

4.2 ANTISUERO ANTI-LAMBDA - PER

Preparación

El vial de antisuero contiene inmunoglobulinas totales de mamífero anti-cadenas ligeras ligadas Lambda humanas conjugadas a la peroxidasa. Un procedimiento de estabilización permite conservar el antisuero en forma liofilizada.
El reactivo tiene un color específico para evitar errores al usarlo. El color es el mismo que el de la etiqueta del vial.
Reconstituya el vial de antisuero liofilizado con exactamente 0,7 mL de agua destilada o desionizada. Deje reposar 5 minutos y agite suavemente (evite la formación de espuma).
Después, prepare la solución de trabajo del antisuero justo antes de usarla, mezclando para cada pareja LCR / suero que vaya a analizar: 6 µL de antisuero anti-Lambda - PER reconstituido y 34 µL de diluyente de antisuero. Homogenice bien la mezcla.

Uso

Para la inmunofijación y visualización de las proteínas separadas mediante electroforesis.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Antes de reconstituirlo, el antisuero liofilizado debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C) protegido de la luz, siendo estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial de antisuero o en su caja.
El antisuero reconstituido debe conservarse a 2 - 8 °C protegido de la luz y usarse en el plazo de una semana para evitar que se contamine o desnaturalice.
Puede congelarse (en alícuotas) y conservarse un máximo de 6 meses a - 20 °C.

IMPORTANTE: Después de la conservación a 2 - 8 °C ó a - 20 °C, homogenice el antisuero reconstituido antes de preparar la solución de trabajo (antisuero diluido).

El antisuero descongelado debe conservarse a 2 - 8 °C y usarse ese mismo día. No congele y descongele el antisuero más de 2 veces.
Deseche el antisuero si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

NOTA: Los antisueros pueden proceder de diferentes especies de animales. No mezcle dos viales de antisueros diferentes, incluso si son de la misma especificidad, y cambie SIEMPRE la punta de la pipeta al cambiar de vial de antisuero.

Durante el transporte, los antisueros pueden permanecer a temperatura ambiente (15 a 30 °C) durante 15 días sin ningún efecto adverso en su funcionamiento.

5. PERÓXIDO DE HIDRÓGENO: H_2O_2, 30 %.

MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS

Extracción y conservación de las muestras

El suero y el LCR de un mismo paciente deben obtenerse a la vez, de acuerdo con los procedimientos establecidos de uso en el laboratorio clínico. Se recomienda realizar los análisis con sueros y LCR frescos. Las muestras pueden conservarse en nevera (2 a 8 ° C) hasta una semana. Para períodos de conservación más prolongados, congele las muestras. El suero y LCR congelados son estables durante un mes por lo menos.

Preparación de las muestras

- Mida las concentraciones de Ig en el LCR y el suero usando procedimientos apropiados.
- La concentración de cualquier Ig en particular en las muestras de LCR y suero que van a compararse debe estar siempre ajustada al mismo nivel en ambas muestras.

El ajuste depende de la concentración original de Ig en el LCR ; use el diluyente de muestras para realizar todas las diluciones:

1er caso: La concentración de la Ig de interés está por encima de 1 mg/dL.
Diluya el LCR y el suero con el diluyente de muestras para obtener una concentración de la Ig de interés de 1 mg/dL.

2º caso: La concentración en el LCR de la Ig de interés está entre 0.5 y 1 mg/dL.
Use LCR neto. Diluya el suero para obtener la misma concentración de Ig que en la muestra de LCR.

3er caso: La concentración de la Ig de interés en el LCR está por debajo de 0.5 mg/dL.
Concentre el LCR con cualquier dispositivo apropiado para obtener una concentración de la Ig de interés entre 0.5 y 1 mg/dL. Diluya el suero para obtener la misma concentración de Ig que en la muestra de LCR.

Ejemplo de las diluciones (sólo para muestras con una concentración de la Ig de interés por encima de 1.0 mg/dL) :

Para el LCR:
A (mg/dL) = concentración de la Ig de interés por encima de 1.0 mg/dL.
Obtenga x µL de LCR y añada [x (A - 1)] de diluyente de muestra (valor aconsejado para x = 10 µL).
Si A está por debajo de 1.0 mg/dL, use LCR neto.

Para el suero:
B (mg/dL) = concentración de la Ig de interés.
- Diluya el suero 20 veces con diluyente de muestras, por ejemplo, 5 µL de suero y 95 µL de diluyente de muestras.
- Obtenga y µL de suero diluido y añada [y (B/20 - 1)] de diluyente de muestras (valor aconsejado para y = 2 µL).

PROCEDIMIENTO

El sistema HYDRASYS es un instrumento multiparamétrico semiautomático en el que los geles de agarosa HYDRAGEL son tratados según las etapas siguientes: aplicación de las muestras, migración electroforética, incubación con los antisueros y el sustrato, parada de la reacción enzimática, absorción y secado final del gel. Las etapas manuales incluyen el manejo de las muestras y los geles, la aplicación de los reactivos y la preparación del instrumento para el funcionamiento.
LEA DETENIDAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL HYDRASYS.

I. PREPARACIÓN DE LA MIGRACIÓN

1. Encienda el HYDRASYS.
2. Coloque un aplicador de 6 pocillos para el HYDRAGEL 3 CSF o un aplicador de 15 pocillos para el HYDRAGEL 6 CSF en una superficie plana, con los números de los pocillos hacia arriba.
   - Aplique 15 µL de muestra en cada pocillo (Fig. 1). Cargue el aplicador en menos de 2 minutos. El ejemplo siguiente muestra el análisis de tres o seis parejas LCR/suero en un gel con un solo tipo de anticuerpo (por ejemplo, anti-Ig G) ; se pueden realizar asimismo otras combinaciones, por ejemplo, se pueden analizar las Ig G, Ig A e Ig M de dos parejas LCR/suero.

	Paciente n°	**1**	**2**	**3**			
Pocillo n°	CSF	1	3	5			
(aplicador 6 pocillos)	Suero	2	4	6			
	Paciente n°	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Pocillo n°	CSF	2	4	6	9	11	13
(aplicador 15 pocillos)	Suero	3	5	7	10	12	14

   IMPORTANTE: En el HYDRAGEL 6 CSF, los pocillos n° 1, 8 y 15 no se usan ; se recomienda identificarlos previamente con un rotulador para evitar aplicar muestra en ellos por error.
   - Aplique 15 µL de diluyente de muestra en los pocillos n° 1, 8 y 15 del aplicador de 15 pocillos.
   - Coja el aplicador por la protección de plástico de los dientes y póngalo con los dientes hacia arriba en la cámara seca previamente reactivada.

   Consulte la hoja de instrucciones de la cámara seca para más detalles.
   - Cierre la tapa de la cámara seca.
   - Deje el aplicador en la cámara seca a temperatura ambiente durante 15 minutos. Las proteínas de la muestra se focalizarán en la punta de los dientes del aplicador y se concentrarán por evaporación parcial.
   - Cuando hayan pasado 15 minutos, proceda inmediatamente a realizar el paso n° 8 – aplicación de las muestras en el gel. Prepare la migración mientras las muestras estén siendo concentradas.
3. Abra la tapa del módulo de migración y eleve los soportes de los electrodos y el aplicador.

   ATENCIÓN: ¡No cierre la tapa del aparato si los soportes están elevados!
4. Seleccione el programa de migración "3 CSF ME/MD" para el HYDRAGEL 3 CSF o el programa de migración "6 CSF ME/MD" para el HYDRAGEL 6 CSF en el menú del instrumento (lado izquierdo del teclado).
5. Saque las esponjas tamponadas de su envoltorio ; cójalas por las lengüetas de plástico. Coloque las esponjas en el soporte de los electrodos, enganchando los extremos perforados de las lengüetas de plástico en las clavijas ; el lado de la esponja fijado sobre la lengüeta debe quedar encarado al soporte (Fig. 2).
6. Saque el gel HYDRAGEL de su estuche.
   - Elimine rápidamente el exceso de líquido de la superficie del gel colocando un papel de filtro fino encima del mismo. Saque el papel inmediatamente.

   ATENCIÓN: No deje que el papel de filtro fino contacte con el gel durante mucho rato para evitar que se deshidrate.
   - Dispense 120 µL de agua destilada para el HYDRAGEL 3 CSF, ó 200 µL para el HYDRAGEL 6 CSF, en el tercio inferior del marco serigrafiado en la Placa de Control de la Temperatura del módulo de migración.
   - Ponga el gel (con el lado de agarosa hacia arriba) en la placa, apoyando su parte inferior en la barrita de plástico situada en la base del cuadro serigrafiado (Fig. 3).
   - Doble el gel y haga que contacte con el agua (Fig. 3). Compruebe que no se hayan formado burbujas de aire, que el agua se haya extendido por debajo de todo el gel y que éste esté alineado con el cuadro serigrafiado.
7. Baje ambos soportes. En esta posición, las esponjas tamponadas no tocan el gel. NO FUERCE LOS SOPORTES HACIA ABAJO.
8. Después de que las muestras se hayan concentrado en el aplicador:
   - Rompa la protección de plástico de los dientes del aplicador.
   - Ponga el aplicador en la posición n° 8 del soporte.

   IMPORTANTE: Los números de los pocillos del aplicador deben quedar de cara al operario (Fig. 4).
9. Cierre la tapa del módulo de migración.
10. Inicie el procedimiento inmediatamente apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado).
    IMPORTANTE: Compruebe que la rejilla de ventilación del lado derecho del instrumento no está bloqueada.

MIGRACIÓN – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Los dos soportes descienden para que las esponjas tamponadas y el aplicador contacten con la superficie del gel.
- El soporte del aplicador se eleva.
- La migración se realiza a 10 W constantes en el HYDRAGEL 3 CSF, ó a 20 W constantes en el HYDRAGEL 6 CSF, a 20 °C controlados por efecto Peltier, hasta que se hayan acumulado 80 Vh (durante unos 17 minutos).
- El soporte de los electrodos se eleva para desconectarlos.
- Suena un pitido y la tapa se desbloquea. Esta señal se mantendrá hasta que el operario abra la tapa. En la pantalla aparece el mensaje intermitente: "⇩ AS" indicando que hay que aplicar los antisueros.

NOTA: La tapa del módulo de migración permanece cerrada durante todas las etapas de la migración.

II. PREPARACIÓN DE LA INMUNOFIJACIÓN

La plantilla dinámica contiene un segmento para antisueros, un soporte del segmento, una guía de la plantilla dinámica y un dispositivo reductor de superficie (Fig. 5).
Durante la migración, monte la plantilla dinámica de la manera siguiente:

1. Ponga la guía de la plantilla dinámica en una superficie plana.
2. Coloque el reductor de superficie en la guía de la plantilla dinámica.

3. Ponga un segmento para antisueros en el soporte del segmento (Fig. 6):
   - Incline el segmento para antisueros 45° y colóquelo en las patillas del soporte del segmento.
   - Apoyándose en estos resortes, gire el segmento para fijarlo en las muescas del soporte del segmento.

   ATENCIÓN: Compruebe que el segmento esté bien colocado en el soporte: los salientes situados en los extremos del segmento deben estar bien encajados en las muescas del soporte.
4. Coloque el conjunto soporte-segmento en la guía de la plantilla dinámica (Fig. 7).
5. Aplique los reactivos de la forma siguiente:
   En el HYDRAGEL 3 CSF : aplique 15 µL de antisuero en cada pocillo del segmento para antisueros de 6 pocillos,
   En el HYDRAGEL 6 CSF : aplique 15 µL de antisuero en los pocillos nº 2 a 7 y 9 a 14 del segmento para antisueros de 15 pocillos.
   Use antisueros con especificidad para las inmunoglobulinas de interés y aplique el mismo antisuero a las correspondientes muestras de LCR y suero.

   IMPORTANTE: En el HYDRAGEL 6 CSF, no use los pocillos del segmento para antisueros que están en las posiciones 1, 8 y 15.
   - Aspire los reactivos sin que se formen burbujas de aire en la punta de la pipeta.
6. Aplique los reactivos (Fig. 8):
   - Sostenga la pipeta inclinada y apoye ligeramente su punta en un lado del pocillo, sin tocar el fondo del pocillo.
   - Dispense el reactivo en el pocillo.

III. INMUNOFIJACIÓN

1. Después de la migración, abra la tapa (el mensaje de la pantalla deja de ser intermitente).
2. Saque el aplicador de muestras y deséchelo.
3. Eleve ambos soportes, saque las esponjas tamponadas cogiéndolas por las lengüetas y tírelas.
   - Saque los soportes de los electrodos y el aplicador.
   - Limpie los electrodos con un pañuelo de papel humedecido.
   - Deje el gel en su lugar en el módulo de migración.
4. Prepare la plantilla dinámica para la aplicación de los reactivos de la forma siguiente (Fig. 9):
   - Coloque la barra metálica que se usa para fijar la plantilla con ayuda de los pernos de anclaje (una vez colocada, la barra metálica puede permanecer en el módulo de migración).
   - Coloque las muescas de la plantilla en las marcas de la barra cogiendo la plantilla por la lengüeta.
5. Haga descender la plantilla dinámica sobre la placa del HYDRASYS.

   IMPORTANTE: Ajuste previamente la posición de la plantilla dinámica para obtener una correspondencia perfecta entre los perfiles electroforéticos del gel y los pocillos de la plantilla.
6. Ponga el soporte del segmento en el punto más bajo de la guía de la plantilla, dirigido hacia el operario. Sostenga el conjunto soporte-segmento por el asa situada a la derecha y presione en el punto de apoyo central, de forma que el segmento para antisueros contacte con el gel. Deje de presionar ; entonces, los reactivos se extenderán bajo cada carril (Fig. 10).
7. Inmediatamente, con ayuda del asa situada a la derecha, reparta los reactivos efectuando un movimiento lento y regular de ida y vuelta de la plantilla dinámica por encima del gel. Repita este paso dos veces ; en cada movimiento de la plantilla, la aplicación debe durar aproximadamente 5 segundos (Fig. 11).

   ATENCIÓN: Durante este paso, coja la plantilla sólo por el asa. No toque la guía. No vuelva a presionar en el punto de apoyo central, ya que los reactivos podrían mezclarse.
8. Saque la guía y la plantilla dinámica.
9. Saque el soporte del segmento cogiéndolo por el asa.
10. Saque el segmento para antisueros del soporte y deséchelo.

    ATENCIÓN: Manipule con precaución el segmento con los antisueros cargados.
11. Puede quedar reactivo residual en los pocillos después de la aplicación. Esto no afecta a los resultados.
12. Cierre la tapa del HYDRASYS.
13. Inicie inmediatamente el procedimiento de incubación presionando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado). En pantalla aparece el mensaje "[INCUBACIÓN]".

INMUNOFIJACIÓN – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Incubación a 20 °C controlados por efecto Peltier, durante 10 minutos.
- Suena un pitido y la tapa del módulo de migración se desbloquea. En la pantalla aparece el mensaje: "⇩ PAP.", que indica que hay que aplicar un papel de filtro grueso.

  NOTA: La tapa del módulo de migración permanece bloqueada durante la incubación.

IV. ABSORCIÓN CON PAPEL

1. Abra la tapa del módulo de migración.
2. Aplique un papel de filtro grueso sobre el gel:
   - Incline el papel de filtro grueso unos 45°.
   - Alinee el borde inferior del papel de filtro con el borde inferior del gel.
   - Coloque el papel encima del gel.
   - Presione sobre toda la superficie del papel de filtro para asegurar que se adhiere bien al gel.
3. Cierre la tapa del módulo de migración.
4. Inicie el procedimiento apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado).

ABSORCIÓN CON PAPEL – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Absorción a 20 °C controlados por efecto Peltier, durante 3 minutos. En pantalla aparece el mensaje siguiente: "[ABSORCIÓN]".
- Suena un pitido. En la pantalla aparece el siguiente mensaje intermitente: "⇧ PAP. + ⇩ REHID1", que indica que hay que sacar el papel de filtro grueso y aplicar la solución rehidratante.

V. REHIDRATACIÓN DEL GEL

1. Abra la tapa del módulo de migración.
2. Deje el gel colocado en la placa del módulo de migración.
3. Ponga la plantilla de aplicación de reactivos R1 para el HYDRAGEL 3 CSF ó la ENZ 2 mL para el HYDRAGEL 6 CSF (Fig. 12).

4. Aplique 2 mL de solución rehidratante en el HYDRAGEL 3 CSF ó 4 mL en el HYDRAGEL 6 CSF, a través del agujero de la plantilla, en el espacio que hay por debajo (Fig. 13). Compruebe que la solución que está debajo de la plantilla esté extendida uniformemente por la superficie rectangular, centrada en el agujero de la plantilla.
5. Pipetee la solución rehidratante sin que se formen burbujas de aire en la punta de la pipeta.
   - Sostenga la pipeta verticalmente.
   - Apoye ligeramente la punta de la pipeta en el agujero de la plantilla.
   - Inyecte la solución con cuidado y progresivamente sin introducir burbujas de aire por debajo de la plantilla.
6. Cierre la tapa del módulo de migración.
7. Inicie inmediatamente la incubación apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado).

REHIDRATACIÓN DEL GEL – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Incubación a 20 °C controlados por efecto Peltier, durante 5 minutos.
- Suena un pitido. En la pantalla aparece el siguiente mensaje intermitente: "⇧ REHID1 + ⇩ PAP.", que indica que hay eliminar la solución rehidratante y aplicar un papel de filtro grueso.

VI. ELIMINACIÓN DE LA SOLUCIÓN REHIDRATANTE

1. Abra la tapa del módulo de migración.
2. Elimine la solución rehidratante:
   - Sostenga la pipeta en posición vertical y apoye ligeramente la punta de la pipeta en el pocillo (Fig. 13).
   - Retire el reactivo cuidadosa y progresivamente.
3. Coja la plantilla de aplicación de reactivos por la solapa, elévela y sáquela.
   El área del gel debe estar rehidratada.

VII. ABSORCIÓN CON PAPEL

1. Aplique un papel de filtro grueso en el área rehidratada del gel como se ha descrito en el párrafo IV.
2. Presione sobre toda la superficie del papel de filtro grueso para que se adhiera bien al gel.
3. Cierre la tapa del módulo de migración.
4. Inicie el procedimiento apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado).

ABSORCIÓN CON PAPEL – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Absorción a 20 °C controlados por efecto Peltier, durante 3 minutos.
- Suena un pitido. En la pantalla aparece el siguiente mensaje intermitente: "⇧ PAP. + ⇩ REHID2", que indica que hay que sacar el papel de filtro grueso y aplicar solución rehidratante.

VIII. REHIDRATACIÓN DEL GEL

1. Abra la tapa del módulo de migración.
2. Deje el gel en la placa del módulo de migración.
3. Ponga la plantilla de aplicación de reactivos R1 para el HYDRAGEL 3 CSF ó la ENZ 2 mL para el HYDRAGEL 6 CSF (Fig. 12).
4. Aplique 2 mL de solución rehidratante en el HYDRAGEL 3 CSF ó 4 mL en el HYDRAGEL 6 CSF en el espacio que hay por debajo de la plantilla (Fig. 13). Compruebe que la solución que hay debajo de la plantilla esté distribuida uniformemente por la superficie rectangular centrada en el agujero de la plantilla.
5. Pipetee la solución rehidratante sin que se formen burbujas de aire en la punta de la pipeta.
6. Cierre la tapa del módulo de migración.
7. Inicie la incubación inmediatamente apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado).

REHIDRATACIÓN DEL GEL – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Incubación a 20 °C controlados por efecto Peltier, durante 30 minutos.
- Después del período de incubación, suena un pitido y la temperatura de la placa aumenta de 20 a 30 °C.
- En la pantalla aparece el siguiente mensaje intermitente: "⇧ REHID2 + ⇩ TTF3", que indica que hay que eliminar la solución rehidratante y aplicar la solución de visualización.

IX. ELIMINACIÓN DE LA SOLUCIÓN REHIDRATANTE

1. Abra la tapa del módulo de migración.
2. Elimine la solución rehidratante como se ha descrito previamente en el párrafo VI.
3. Deje puesta la plantilla.

X. VISUALIZACIÓN

1. Aplique 1 mL de solución de visualización, en el HYDRAGEL 3 CSF ó 2 mL en el HYDRAGEL 6 CSF, preparada justo antes de usarla, en el espacio que hay por debajo de la plantilla.
2. Compruebe que la solución que hay por debajo de la plantilla esté distribuida uniformemente en la superficie rectangular centrada en el agujero de la plantilla.
   - Pipetee la solución de visualización TTF3 sin que se formen burbujas de aire en la punta de la pipeta.
3. Cierre la tapa del módulo de migración.
4. Inicie inmediatamente la incubación apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado).

INCUBACIÓN – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Incubación a 30 °C controlados por efecto Peltier, durante 15 minutos.
- Suena un pitido. En la pantalla aparece el siguiente mensaje intermitente: "⇧ TTF3 + ⇩ PAP.", que indica que hay que eliminar la solución de visualización y aplicar un papel de filtro grueso.

XI. ELIMINACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE VISUALIZACIÓN

1. Abra la tapa del módulo de migración.
2. Elimine la solución de visualización como se ha descrito previamente en el párrafo VI.
3. Coja la plantilla de aplicación de reactivos por la solapa, elévela y sáquela.

XII. ABSORCIÓN CON PAPEL

1. Aplique un papel de filtro grueso en la parte revelada del gel, como se ha descrito previamente en el párrafo IV.
2. Presione sobre toda la superficie del papel de filtro grueso para que se adhiera bien al gel.
3. Cierre la tapa del módulo de migración.
4. Inicie el procedimiento de absorción apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado).
5. Limpie la plantilla con agua destilada o alcohol y séquela bien con un papel absorbente suave. Antes de volver a usarla, compruebe que la plantilla esté completamente seca ; elimine las gotitas de agua dando golpecitos en un papel suave.

   NOTA: Se puede usar alcohol para limpiar las plantillas de aplicación de reactivos R1 ó ENZ 2 mL después de la etapa de visualización con el TTF3.

ABSORCIÓN CON PAPEL – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Absorción a 30 °C controlados por efecto Peltier, durante 3 minutos.
- Suena un pitido. En la pantalla aparece el siguiente mensaje intermitente: "⇧ PAP. + ⇩ REHID3", que indica que hay que sacar el papel de filtro grueso y aplicar la solución rehidratante.

XIII. REHIDRATACIÓN DEL GEL

1. Abra la tapa del módulo de migración.
2. Deje el gel en la placa del módulo de migración.
3. Coloque la plantilla de aplicación de reactivos R1 para el HYDRAGEL 3 CSF ó la ENZ 2 mL para el HYDRAGEL 6 CSF (Fig. 12).
4. Aplique 2 mL de solución rehidratante en el HYDRAGEL 3 CSF ó 4 mL en el HYDRAGEL 6 CSF en el espacio que hay por debajo de la plantilla (Fig. 13). Compruebe que la solución que está por debajo de la plantilla esté distribuida uniformemente en la superficie rectangular centrada en el agujero de la plantilla.
   - Pipetee la solución rehidratante sin que se formen burbujas de aire en la punta de la pipeta.
5. Cierre la tapa del módulo de migración.
6. Inicie inmediatamente la incubación apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado).

REHIDRATACIÓN DEL GEL – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Incubación a 30 °C controlados por efecto Peltier, durante 5 minutos.
- En la pantalla aparece el siguiente mensaje intermitente: "⇧ REHID 3 + ⇩ PAP.", que indica que hay que eliminar la solución rehidratante y aplicar un papel de filtro grueso.

XIV. ELIMINACIÓN DE LA SOLUCIÓN REHIDRATANTE

1. Abra la tapa del módulo de migración.
2. Elimine la solución rehidratante como se ha descrito previamente en el párrafo VI.
3. Coja la plantilla de aplicación de reactivos por la solapa, elévela y sáquela.

XV. ABSORCIÓN CON PAPEL Y SECADO DEL GEL

1. Aplique un papel de filtro grueso sobre el gel.
2. Presione sobre toda la superficie del papel de filtro grueso para que se adhiera bien al gel.
3. Cierre la tapa del módulo de migración.
4. Inicie el procedimiento apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado).

ABSORCIÓN CON PAPEL – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Absorción con papel a 30 °C controlados por efecto Peltier, durante 3 minutos.
- Suena un pitido. En la pantalla aparece el siguiente mensaje intermitente: "⇧ PAP.", que indica que hay que sacar el papel de filtro grueso.

XVI. SECADO DEL GEL

1. Abra la tapa del módulo de migración.
2. Saque el papel de filtro grueso y deje el gel en la placa de migración.
3. Cierre la tapa del HYDRASYS.
4. Inicie el secado apretando la tecla "INICIO" (flecha verde del lado izquierdo del teclado). En la pantalla aparece el mensaje siguiente: "[SECADO]".

SECADO – DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Secado del gel a 50 °C, durante 3 minutos.
- Suena un pitido que indica que hay que abrir la tapa.

  - Abra la tapa.
  - Saque le gel seco.
  - Si es necesario, elimine las pelusas del gel con un papel suave. Limpie el respaldo (el lado de soporte de plástico) del gel seco con un pañuelo de papel suave humedecido.

  NOTA:

  - *La temperatura de la placa desciende hasta 20 °C en menos de 5 minutos. Cuando se alcanzan los 20 °C se puede iniciar una nueva migración.*
  - *Ponga el soporte de los electrodos y el aplicador en el módulo de migración.*
  - *Limpie la placa de control de la temperatura con un pañuelo de papel suave humedecido.*

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda incluir un suero control en cada serie de análisis (Control CSF, SEBIA, referencia nº 4794).

INTERPRETACIÓN [1, 2, 11, 16]

La síntesis intratecal, en el sistema nervioso central, es detectada por las siguientes observaciones comparativas:
- El patrón de inmunofijación del LCR es diferente al del suero del mismo paciente.
- Las bandas oligoclonales están presentes en la mayoría de casos pero no en todos.
- Una banda más intensa, una banda adicional, incluso una única banda débil de inmunofijación observada en el patrón del LCR, pero no en el del suero, son indicadores de la síntesis intratecal de Ig.
- En algunas ocasiones, no se observan bandas de Ig oligoclonales o monoclonales aunque las observaciones clínicas sugieran esclerosis múltiple. En estos casos, el tipo policlonal de banda de inmunoglobulina en el patrón del LCR puede ser más catódico que en el patrón del suero.
- En la mayoría de casos, las inmunoglobulinas intratecales son de la clase Ig G ; muy raramente, son Ig A ó Ig M.
- La síntesis intratecal de Ig A se manifiesta a menudo como una migración más catódica de la Ig A del LCR comparada con la Ig A del suero.

Para garantizar una interpretación comparativa correcta, es imperativo cumplir lo siguiente:
- Las muestras de LCR y suero deben obtenerse a la vez del mismo paciente. Debe evitarse cualquier tratamiento de las muestras que pueda alterar la concentración de las inmunoglobulinas.
- Las concentraciones de las inmunoglobulinas del LCR y el suero deben determinarse de forma precisa, de manera que después del ajuste se apliquen en el gel cantidades iguales en el LCR y el suero de la Ig de interés.

La detección de la síntesis de Ig intratecal mediante inmunofijación sensible es un indicador más específico y sensible que la información proporcionada por los diversos cocientes calculados a partir de las concentraciones totales de inmunoglobulinas y otras proteínas del LCR y el suero. La confirmación de la síntesis de Ig intratecal es una información importante para sospechar la existencia de una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central. El perfil oligoclonal u otros indicios de la síntesis intratecal de Ig´s pueden encontrarse en diferentes enfermedades del sistema nervioso central, tales como:
- 70 a 95 % de casos de esclerosis múltiple,
- 100 % de casos de neurosífilis no tratadas,
- 100 % de casos de leucoencefalitis esclerosante subaguda.

El diagnóstico no debe estar basado únicamente en los resultados de la inmunofijación. Estos resultados deben ser tenidos en cuenta junto con las observaciones clínicas y el historial, y complementados mediante pruebas bioquímicas y microbiológicas.

Limitaciones
El uso de antisueros distintos a los indicados por el fabricante puede afectar a los resultados.
Debido a los límites de resolución y sensibilidad de la electroforesis de zona, es posible que algunos componentes monoclonales no sean detectados por este método.

Resolución de problemas
Contacte con el Servicio de Asistencia Técnica de su distribuidor cuando la prueba no funcione pese a haber seguido cuidadosamente las instrucciones para la preparación y conservación de los materiales, y para realizar el procedimiento.
Puede solicitar las fichas de seguridad de los diferentes reactivos y las informaciones relativas a la eliminación de los productos de desecho al Servicio de Asistencia Técnica de su distribuidor.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Reproducibilidad
Reproducibilidad intraserial
Se aplicaron muestras de LCR y suero procedentes de dos pacientes en todos los carriles de un único gel de HYDRAGEL 6 CSF. La primera pareja, analizada en tres geles, se incubó con antisueros anti-Ig G, anti-Kappa y anti-Lambda ; la segunda pareja se incubó sólo con anti-Ig G en un gel.
Se aplicaron dos sueros con paraproteínas en todos los carriles de un único gel de HYDRAGEL 6 CSF y se incubaron con antisueros anti-Ig A y anti-Ig M respectivamente.

Reproducibilidad interserial
Se aplicaron dos parejas de muestra LCR-suero en diez geles de HYDRAGEL 6 CSF procedentes del mismo lote, y se incubaron con antisueros anti-Ig G, anti-Kappa y anti-Lambda.

Resultados:
Los resultados obtenidos con el procedimiento HYDRAGEL 6 CSF indican una muy buena reproducibilidad intra e interserial con los antisueros anti-Ig G, anti-Ig A, anti-Ig M, anti-Kappa y anti-Lambda.
Tras examinar visualmente los resultados, en todos los estudios de reproducibilidad se identificaron las bandas oligoclonales correctamente en cada muestra y en todos los geles, no había falsos positivos/negativos y no se observaron diferencias entre las réplicas.

Exactitud – Detección e identificación de las bandas oligoclonales
Se analizaron treinta y ocho (38) muestras de LCR y suero procedentes de pacientes con varias enfermedades del sistema nervioso central (30 muestras presentaban síntesis intratecal), usando el procedimiento HYDRAGEL 6 CSF y un sistema comercial de electroforesis. En ambas procedimientos, las muestras de LCR y suero se diluyeron para que tuvieran 1 mg/dL de Ig G.
Las separaciones electroforéticas se evaluaron visualmente para determinar la presencia de bandas oligoclonales de Ig.
Había una coincidencia general entre las dos pruebas en la detección de bandas oligoclonales.

Sensibilidad
La sensibilidad del procedimiento HYDRAGEL 6 CSF es la siguiente: el límite de detección de una banda monoclonal del tipo Ig G está comprendido entre 3.1 y 12.5 µg/dL, alrededor de 12.5 µg/dL para una del tipo Ig A, alrededor de 25 µg/dL para una del tipo Ig M y alrededor de 3.1 y 12.5 µg/dL para paraproteínas con cadenas ligeras Kappa o Lambda unidas respectivamente.

BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY

1. Ali S, Sun T, Narukar L. Oligoclonal banding in cerebrospinal fluids of Lyme disease patients. *Am J Clin Pathol*, 1993, 100 : 335.
2. Anderson M, Alvarez-Cermeno J, Bernardi G *et al.* Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis : a consensus report. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 1994, 57 : 897-902.
3. Blennow K, Fredman P, Wallin A, Gottfries CG, Frey H, Skoog I, Svennerholm L. Formulas for the quantitation of intrathecal Ig G production. Their validity in the presence of blood-brain barrier damage and their utility in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*, 1994 ; 121 : 90-96.
4. Caudie C, Vergne A, Saint-Marc T, Touraine F, Livrozer JM, Confraveux C, Quincy CL, Touraine JL. Profil biologique du LCR chez 48 patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). *Retrovirus*, 1990, 5 : 34-42.
5. Christenson RH, Russell ME, Gubar KT, Silverman LM, Ebers GC. Oligoclonal banding in cerebrospinal fluid assessed by electrophoresis on agarose after centrifugal sample concentration through a microconcentrator membrane. *Clin Chem*, 1985 ; 31 : 1734-1736.
6. Davenport RD, Keren DF. Oligoclonal bands in cerebrospinal fluids : significance of corresponding bands in serum for diagnosis of multiple sclerosis. *Clin Chem*, 1988 ; 34 : 764-765.
7. Ford HC. Abnormalities of serum and plasma components in patients with multiple sclerosis. *Clin Chem*, 1985 ; 18 : 3-13.
8. Gerson B, Cohen SR, Gerson IM, Guest GH. Myelin basic protein, oligoclonal bands and Ig G in cerebrospinal fluid as indicators of multiple sclerosis. *Clin Chem*, 1981 ; 27 : 1974-1977.
9. Guessain A, Caudie C, Gout O *et al.* Intrathecal synthesis of antibodies to human T lymphotropic Virus Type I and the presence of Ig G oligoclonal bands in the cerebrospinal fluid of patients with endemic tropical spastic paraparesis. *J Inf Dis*, 1988, 157, 6 : 1226-1234.
10. Kabat EA, Landow H, Moore DH. An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins. *J Clin Invest,* 1942 ; 21 : 571-577.
11. Keren DF, "High Resolution Electrophoresis and Immunofixation Techniques and Interpretation", Butterworth-Heinemann, Woburn, MA, USA, 1994, 397 pp.
12. Keshgegian AA, Coblentz J, Lisak RP. Oligoclonal immunoglobulins in cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *Clin Chem*, 1980 ; 26 : 1340-1345.
13. Olsson JE, Link H. Immunoglobulin abnormalities in multiple sclerosis. *Arch Neurol*, 1973, 28 : 392-399.
14. Papadopoulos NM, Costello R, Kay AD, Cutler NR, Rapoport SL. Combined immunochemical and electrophoretic determinations of proteins in paired serum and cerebrospinal fluid samples. *Clin Chem*, 1984 ; 30 : 1814-1816.
15. Reiber. Liquor diagnostik. *Diagnose and Labor*, 1987, 37 : 63-72.
16. Sharief MK, Thompson EJ. Intrathecal immunoglobulins M synthesis in multiple sclerosis. Relationship with clinical and cerebrospinal fluid parameters. *Brain*, 1991, 114 : 181-195.
17. Winfield JB, Shaw M, Silverman LM, Eisenberg RA, Wilson HA, Koffler D. Intrathecal Ig G synthesis and blood-brain barrier impairment in patients with systemic lupus erythematosus and central nervous system dysfunction. *Am J Med*, 1983 ; 74 : 837-844.
18. Wendling A. Procédures de diagnostic ou de dépistage : Justification et validité d'un test de diagnostic ou de dépistage-sensibilité-spécificité. *Impact-Internat*, 1986 ; Sept : 93-97.

SCHÉMAS / FIGURES

Figure 1

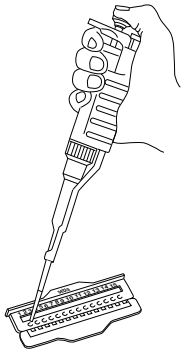


Figure 2

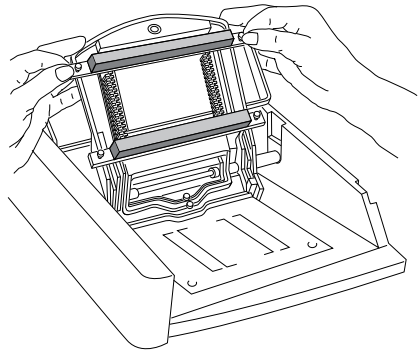


Figure 3

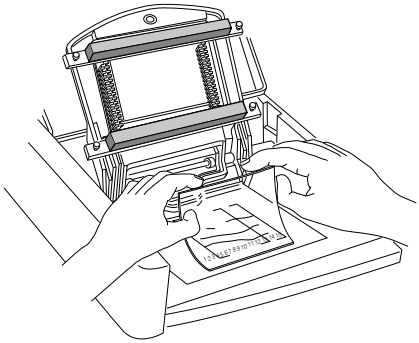
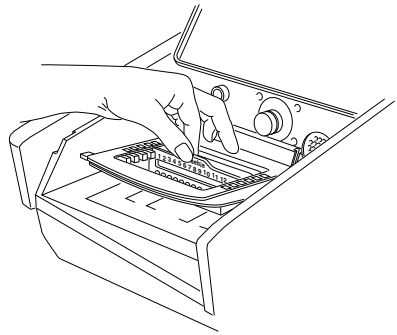


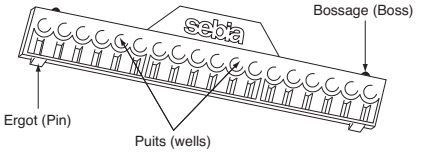
Figure 4



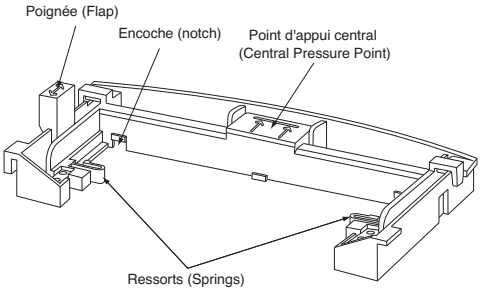
SCHÉMAS / FIGURES

Figure 5

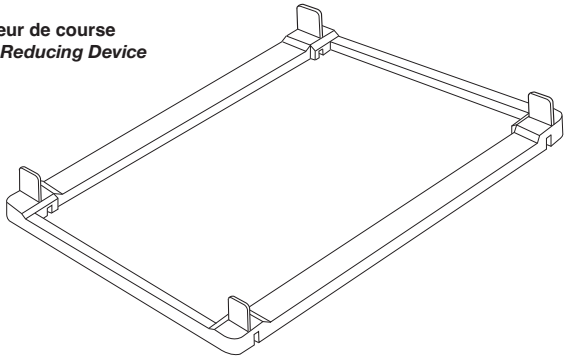
Barrette antisérums
Antisera Segment



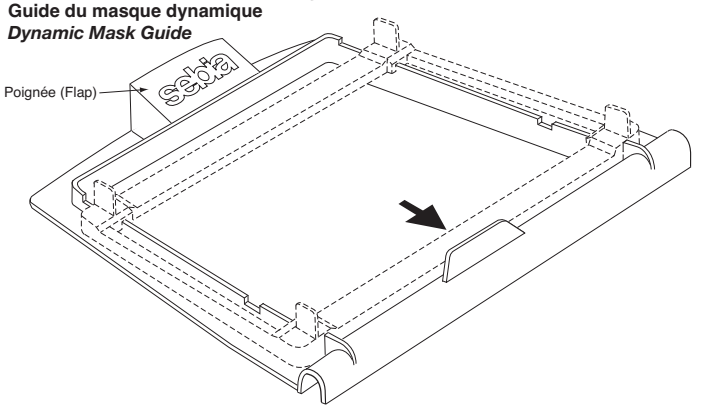
Support barrette
Segment Holder



Réducteur de course
Length Reducing Device



Guide du masque dynamique
Dynamic Mask Guide



SCHÉMAS / FIGURES

Figure 6

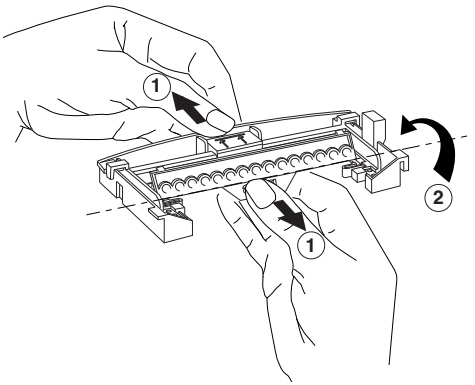


Figure 7

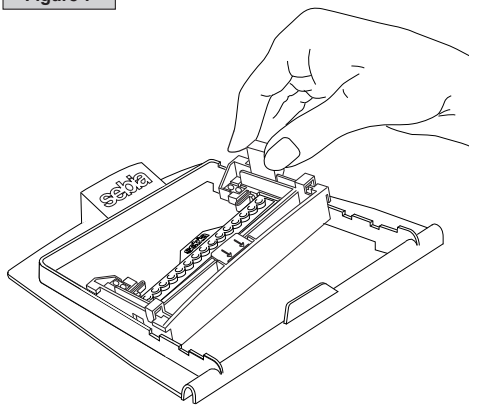


Figure 8

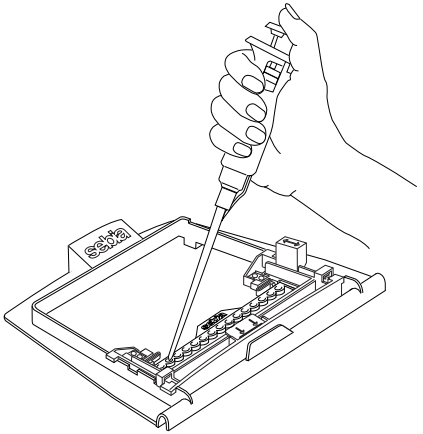


Figure 9

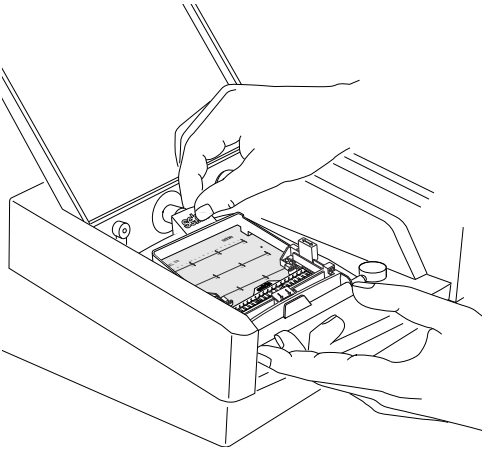


Figure 10

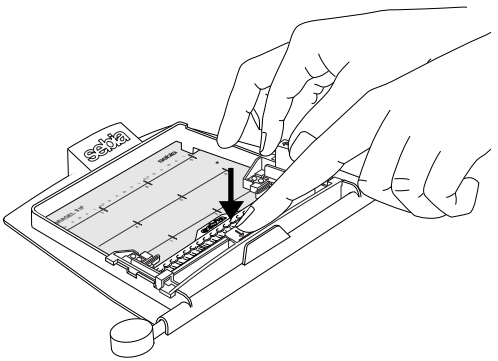
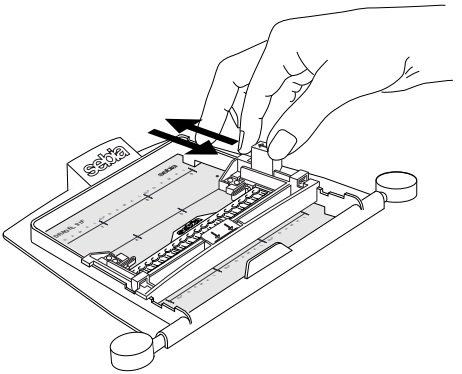


Figure 11



SCHÉMAS / FIGURES

Figure 12

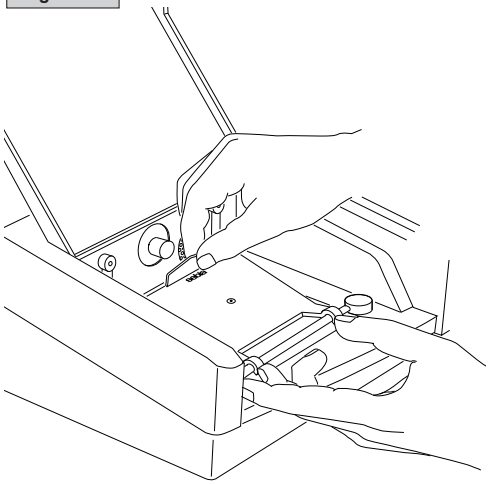
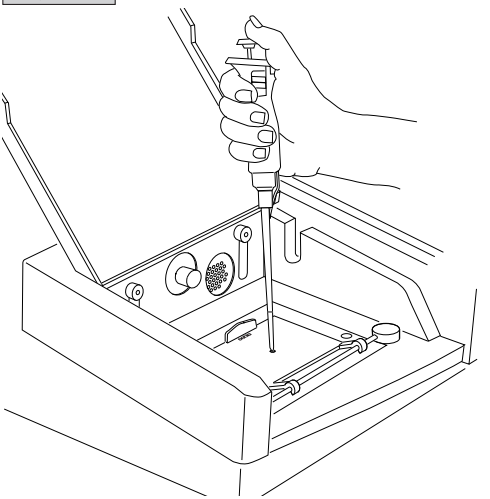



Figure 13